

Approved For Release STAT
2009/08/31 :
CIA-RDP88-00904R000100130

Dec

Approved For Release
2009/08/31 :
CIA-RDP88-00904R000100130



Вторая Международная конференция
Организации Объединенных Наций
по применению атомной энергии
в мирных целях

A/CONF.15/P/2244

USSR

ORIGINAL: RUSSIAN

Не подлежит оглашению до официального сообщения на Конференции

ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА В РАСТИТЕЛЬНОЙ
И ЖИВОТНОЙ КЛЕТКЕ

Н.М.Сисакян

2583-

Широкое использование в биохимии изотопного метода открыло большие возможности в исследовании биосинтеза белка. В этой области уже получен ряд выдающихся результатов. В качестве примера достаточно указать на вопросы, связанные с изучением характера обмена пищевых и тканевых белков; с выяснением роли субцеллюлярных микроструктур в синтезе белка и др. Однако многие вопросы метаболизма белка в настоящее время весьма интенсивно разрабатываются в различных лабораториях и ждут своего решения. При изучении этой проблемы прежде всего возникают вопросы: 1) о предшественниках белковой молекулы и механизме их активирования; 2) о значении структурной организации и роли нуклеиновых кислот; 3) о скорости обновления белковой молекулы и новообразования пептидной связи; 4) об источниках энергии для синтеза белка и т.д. Разрушение этих вопросов встречает известные трудности и в связи с тем, что наряду с общими чертами химизма синтеза белка в организмах различных филогенетических групп, имеются и весьма существенные различия. Помимо этого синтез пептидной связи очевидно своеобразен в различных органах и тканях одного организма и в разных органоидах клетки. В связи с этим нам казалось целесообразным рассмотреть некоторые данные, полученные в руководимой мною лаборатории энзимологии Института биохимии им. А.Н.Баха Академии наук СССР при непосредственном участии И.И.Филиппович, Е.Б.Куваевой и М.В.Вейновой. В исследовании биосинтеза пептидной связи мы обращали внимание не только на общность этого процесса, но и на его особенности в структур-

25 YEAR RE-REVIEW

-2-

ных образованиях различного происхождения.

а) Синтез белка на клеточных органоидах
различного происхождения

Синтез пептидной связи осуществляется на различных типах структур, но с неодинаковой интенсивностью. У бактерий нарушение структурной целостности протопласта изменяет как интенсивность, так и условия включения радиоактивной метки в белки (1,2). В животной клетке способность к синтезу белка была обнаружена в опытах с изолированными микросомами (3,4), клеточными ядрами (5,6), большими легкими гранулами (7). При этом было показано, что отдельные структурные элементы осуществляют этот процесс с различной интенсивностью. Наибольшая интенсивность включения меченых аминокислот в белки проявляется у фракции микросом, при их совместной инкубации с митохондриями или фактором небелковой природы, полученным из митохондрий после предварительной инкубации последних в условиях окислительного фосфорилирования. В анаэробных условиях включение радиоактивной метки в белки микросом усиливается при комбинации фракции микросом и остаточного центрифугата (3). Примерно такая же картина распределения белкового синтеза наблюдается во внутриклеточных структурах этиолированных растений (8).

Данные нашей лаборатории показывают (9), что в зеленом растении наибольший эффект включения меченой аминокислоты в белки проявляется во фракции, осажденной центрифугированием из гомогената листьев табака при 40000 g . Эта фракция содержит незначительное количество хлорофилла и, по-видимому, состоит в основном из митохондрий и микросом, т.е. из структур меньших по размеру, чем хлоропласты и их грани. В таблице № 1 приведены данные, которые показывают, что включение глицина C^{14} в белки этой фракции превышает включение той же аминокислоты в белки хлоропластов почти в двадцать раз.

-3-

Таблица 1

Включение глицина C^{14} в белки различных
фракций гомогената листьев табака

Фракция листьев табака	Относитель- ная сила центрифу- гирования (g)	Содержание хлорофилла в мг на 100 мг сух.в.	Убыль (-) или прирост (+) белкового азота за счет добав- ленных амино- кислот в % к общему	Включение гли- цина C^{14} в белки фрак- ций в имп/мин на 1 мг белка за 1 час
1	150	0,02	- 32,0	80
2	1000	0,40	+ 0,7	90
3	3000	1,46	+ 3,2	140
4	40000	0,12	- 7,8	2680
5	Центрифугат	0,08	- 22,5	39

Вместе с тем необходимо отметить, что фракция, осажденная из гомогената листьев табака при меньшей скорости центрифугирования, содержащая наибольшее количество хлорофилла, представляющая наиболее чистую фракцию хлоропластов, несмотря на слабый эффект включения радиоактивной метки, она является единственной фракцией, где очень четко проявляется способность к приросту белкового азота за счет добавленных аминокислот.

Несоответствие между данными по включению изотопной метки в белки и приростом количества белка мы обнаружили и при исследовании синтеза пептидной связи в полостной жидкости куколок тутового шелкопряда (10). Несовпадение данных по синтезу белка, измеряемого по балансу белкового и небелкового азота, с результатами включения радиоактивной метки в белке проявляется в первый период метаморфоза насекомого. По всей вероятности обнаруживаемое в некоторых случаях несоответствие данных, полученных при помощи изотопов и прямого учета количества белка, объясняется тем, что эти методы характеризуют один и тот же процесс с двух разных сторон. Как включение радиоактивной метки, так и учет соотношения белкового и небелкового азота не только характеризуют синтез пептидной связи, но одновременно дают представление об общей направленности процессов образования и распада белка. Вместе с тем усиление радиоактивности белка даже при отсутствии увеличения его количества свидетельствует

-4-

в конечном итоге об интенсивности обновления белковой молекулы.

Вполне возможно, что в определенные периоды развития организма скорость обновления белка и общая направленность процесса его образования и распада в различных структурных элементах клетки могут быть разными. Данные по включению меченых аминокислот в белки растительных структур показывают, что во фракции митохондрий и микросом обновление белков идет со значительно большей скоростью, чем во фракции хлоропластов.

Наибольшая интенсивность включения меченых аминокислот в белки мелких внутриклеточных структур зеленого и этиолированного растения указывает на общность в распределении этой функции на протоплазматических структурах растительной и животной клеток. Вместе с тем в растительном организме обнаруживаются и некоторые характерные для него своеобразные черты, исключающие проведение полной аналогии как в распределении этой функции, так и в самой природе процесса. При этом необходимо учесть, что приведенные выше данные получены в опытах с изолированными системами. В опытах же *in vivo* радиоактивная метка в первые часы после инфильтрации включается в основном в белки хлоропластов, а затем начинает включаться в белки той суммарной фракции, которая остается после удаления хлоропластов (11). Данные Уэостера (табл. 8) также показывают, что распределение синтетической функции белкового синтеза оказывается различным в опытах *in vivo* и с изолированными структурами.

В противоположность результатам опытов со структурами животной клетки нами было обнаружено, что при совместной инкубации хлоропластов и остаточного центрифугата, выделенных из листьев фасоли, вместо ожидаемого усиления включения глицина C^{14} в белки хлоропластов, происходит резкое снижение или полное прекращение этого процесса (9). Включение меченого глицина в белки хлоропластов не стимулируется добавлением к этой фракции структур, которые получают центрифугированием гомогената листьев фасоли при 40 000 g.

Более того, как видно из данных табл. 2, изолированные хлоропласты обнаруживают эффект включения меченой аминокислоты лишь после тщательной отмывки их от примеси других структур и остаточного центрифугата сахарозофосфатным раствором. Полученные данные, по-видимому, объясняются тем, что в протоплазме растительной клетки присутствуют вещества, ингибирующие энзиматическое включение глицина в белки хлоропластов. В естественных условиях этот фактор

-5-

не препятствует осуществлению белкового синтеза вследствие пространственной разобщенности структур, где происходит синтез белка и ингибиторов этого процесса.

Таблица 2

Включение глицина C^{14} в белки хлоропластов
фасоли (радиоактивность в имп/мин на 1 мг белка на 1 час)

№ опыта	Гомогенат	Хлоропласты	Центрифугат после осаждения хлоропластов	Хлоропласты, промытые три раза сахарозофосфатным раствором	Хлоропласты, промытые + центрифугат
1	0,8	3,5	0,4	47,2	0,8
2	1,2	4,4	0,9	64,2	0,8
3	1,0	3,5	0,8	58,6	1,0

Ингибирующий фактор был обнаружен нами в остаточном центрифугате, полученном из гомогената листьев фасоли и табака (9). Этот фактор легко растворим в воде и термостабилен. Опыты показали, что фактор обладает специфическим ингибирующим действием к энзиматическому включению глицина C^{14} в белки структур растительного происхождения (пластиды, митохондрии) и не влияет на тот же процесс в структурных образованиях животной клетки. Как видно из данных табл. 3, добавление центрифугата из листьев фасоли к системе, содержащей микросомы и митохондрии из печени крысы, включению глицина C^{14} в белки микросом не препятствует. В связи с этим можно предположить, что либо в структурах животной клетки имеются какие-то вещества, которые снимают действие ингибитора растительной клетки, либо данный фактор строго специфичен к процессу ферментативного включения глицина в белки хлоропластов. Если второе предположение правильно, то приходится допустить наличие весьма существенных различий в самой природе белкового синтеза структур животного и растительного происхождения.

О различиях в природе белкового синтеза структур неодинакового происхождения говорят и некоторые другие факты, показывающие, что кроме различного отношения этого процесса к действию центрифугата существуют определенные различия в некоторых условиях

-6-

Таблица 3

Влияние ингибирующего фактора центрифугата из листьев
фасоли на включение глицина C^{14} в белки различных
структур

Система	Включение глицина C^{14} в белки хлоропластов в имп/мин на 1 мг белка за 1 час
Хлоропласты фасоли	50
Хлоропласты фасоли + центрифугат	5
Хлоропласты табака	43
Хлоропласты табака + центрифугат	5
Митохондрии табака	834
Митохондрии табака + центрифугат	90
Микросомы + митохондрии из печени крысы	18
Микросомы + митохондрии из печени крысы + центрифугат из листьев фасоли	20

включения глицина в белки структур растений и животных. Эти особенности проявляются в кинетике процесса, оптимуме pH и энергетических условиях.

б) Пути синтеза белка

Большинство исследователей (12, 13, 14 и др.) считают, что синтез белка происходит непосредственно из свободных активированных аминокислот. Другие исследователи (15, 16, 17) не исключают возможность участия в белковом синтезе пептидов и полипептидов. Исследования нашей лаборатории показывают, что эти пути синтеза белка не исключают, а дополняют друг друга.

О возможности синтеза белка в хлоропластах за счет свободных аминокислот свидетельствуют как данные по приросту белкового азота хлоропластов за счет добавленной в инкубационную среду смеси аминокислот (17), так и результаты опытов по включению свободного меченого глицина в белки пластид (9, 17, 18). В пользу этого говорят такие факты резкого стимулирования процесса включения смеси аминокислот, добавленных к системе в эквимолекулярных соотношениях с меченым глицином (табл. 4).

-7-

Таблица 4

Влияние аминокислот на включение глицина C^{14}
в белки хлоропластов

Добавление аминокислоты	Концентрация аминокислот, микрол	Включение глицина C^{14} в белки в имп/мин на 1 мг белка за 1 час
Без добавлений	-	77
Z -аланин, Z -валин, Z -лей- цин, Z -изолейцин, цистин, цистеин, Z -аспарагиновая кислота, глутаминовая кисло- та, Z -аргинин, лизин, Z - фе- нилаланин, Z -тирозин, Z -трип- тофан, Z -гистидин, Z -серин	0,01	157

В хлоропластах синтез белка происходит также за счет добавлен-
ных в инкубационную среду ди- и трипептидов. В табл. № 5 приве-
дены результаты опытов по включению в белки пластид глицил-глицина
 C^{14} .

Таблица 5

Включение глицил-глицина C^{14} в белки хлоропластов фасоли
(в имп/мин на мг белка за 1 час)

Возраст фасоли	2 недели			3 недели		
№ опыта	1	2	3	1	2	3
Радиоактивность бел- ковых осадков после инкубации хлороплас- тов фасоли с глицил- глицином C^{14} + АТФ	30,9	42,4	28,5	13,1	13,3	9,8

Таким образом, в хлоропластах синтез белка осуществляется как
за счет пептидов, так и свободных аминокислот. Однако существует
определенное различие в условиях, где происходит этот процесс в
зависимости от природы субстрата. Так, синтез белка за счет сво-

-8-

бодных аминокислот идет только в промытых хлоропластах, тогда как этот процесс за счет ди- и трипептидов осуществляется в хлоропластах без их предварительной промывки. Этот факт дает основание полагать, что хлоропласты обладают по крайней мере двумя различными энзиматическими системами, участвующими в синтезе пептидной связи. Одна система катализирует синтез пептидной связи из свободных аминокислот, другая — из пептидов.

Механизм участия пептидов в синтезе белка еще не ясен. Одним из всевозможных путей синтеза белка из пептидов может быть реакция транспептидазного типа, подобно открытой в животных тканях реакции переноса γ -глутамил- и глицил-остатков от различных глутамил- и глицил-пептидов на аминокислоты, пептиды и продукты частичного гидролиза белка.

Однако нельзя не учесть того обстоятельства, что транспептидация, как известно, осуществляется без участия АТФ. Между тем, в наших опытах синтез белка в изолированных хлоропластах за счет пептидов проявляется только в присутствии АТФ. Исследования нашей лаборатории показали, что и в полостной жидкости шелкопряда синтез белка идет двумя различными путями. В полостной жидкости тутового шелкопряда (10) смесь аминокислот стимулирует синтез белка. При этом в разные периоды развития насекомого действие аминокислот оказывается различным. В начале гистолиза, когда полостная жидкость содержит мало аминокислот, добавленные смеси незаменимых аминокислот дают больший эффект, чем полная смесь. На стадии более позднего гистолиза полная смесь дает лучший результат. В начале гистогенеза действие обеих смесей одинаково, а в конце гистогенеза и вплоть до выхода взрослого насекомого добавление смеси незаменимых аминокислот опять оказывается более эффективным. Хроматографическим путем было установлено, что различное действие этих смесей на разных этапах развития насекомого связано с тем, что в полостной жидкости в процессе метаморфоза происходит не только синтез белка из готовых аминокислот, но и синтез самих аминокислот, причем в разные периоды развития куколок тутового шелкопряда способность к синтезу различных аминокислот изменяется и находится в соответствии с данными синтеза белка.

-9-

Таблица 6

Синтез белка при добавлении смеси 19 аминокислот и смеси незаменимых аминокислот. (Прирост белкового азота в % к азоту белка за 18 часов)

Условия опыта	Возраст куколок в %					
	9	27	45	68	82	100
Полостная жидкость - смесь 19 аминокислот	0,7	4,82	3,29	1,21	2,68	0,0
Полостная жидкость + смесь незаменимых аминокислот	9,2	2,46	3,32	2,16	4,26	6,1

Участие в белковом синтезе свободных аминокислот было показано также изотопным методом.

В дальнейших опытах было обнаружено, что наряду с использованием свободных аминокислот в полостной жидкости шелкопряда, также как и в структурных образованиях растительной клетки, для синтеза белка могут быть использованы пептиды.

Ранее было установлено, что во время гистолиза основная масса белков распадается не до отдельных аминокислот, а на более крупные осколки белковой молекулы, которая вероятно играет существенную роль в новообразовании белков и в создании тканей взрослого насекомого. Кроме того, из данных, полученных рядом авторов (18, 19, 20), следует, что при значительных изменениях белков как в гемолимфе, так и в полостной жидкости существенных изменений в период гистолиза в содержании свободных аминокислот не наблюдается. Количество же общего небелкового азота (неосаждаемого трихлоруксусной кислотой) подвергается закономерным изменениям. В связи с этим нам казалось интересным выяснить природу тех пептидов и полипептидов, которые присутствуют в полостной жидкости тутового шелкопряда и, по-видимому, принимают участие в синтезе белка. Такой комплекс соединений был выделен нами из фильтрата полостной жидкости (21, 22). Для этого к центрифугату после осаждения белков 10% трихлоруксусной кислотой добавляли 4 объема этилового спирта.

-10-

Оставший осадок, в состав которого входит гликоген, после центрифугирования отбрасывали, а полученный центрифугат подвергали диализу сначала в проточной, а затем в дистиллированной воде при pH 7. В более кислой среде комплекс распадается. Осаждение комплекса из диализованного центрифугата производилось путем добавления к раствору двух объемов ацетона. Часть этого комплекса растворяется в воде (фракция I), другая часть при этом остается в осадке (фракция II).

В исходном нефракционированном комплексе содержится около 3% азота, 1,8-3% фосфора, 4,0-4,5% пентоз, 2,8-3% гексоз. В I водорастворимой фракции обнаружены 9 аминокислот: аланин, цистин или цистеин, тирозин, валин, фенилаланин, лейцин, лизин, аргинин, треонин или глютаминовая кислота, и не обнаружено триптофана. Углеводный компонент этой фракции содержит глюкозу, маннозу и арабинозу. Фосфор этой фракции кислотоустойчив. Гидролиз I NHCl в течение 3-х часов не приводит к его отщеплению. Фосфор этой фракции определяется после полной минерализации и составляет 62,5% от общего фосфора комплекса. Максимум поглощения этой фракции в У-Ф при 255 мμ.

Кислоторастворимая фракция II является полипептидом, связанным с нуклеотидным компонентом и содержит те же аминокислоты, что и воднорастворимая фракция. Максимум поглощения этой фракции в У-Ф лежит при 255 мμ: фосфор этой фракции, как и вся фракция в целом, осаждается при pH 7-8 2-3 объемами этилового спирта и определяется как обычный ортофосфат по Фiske-Суббороу. Количество этого фосфора составляет от общего фосфора комплекса 33,8%.

В составе комплекса обнаружен рибофлавин в количестве 50 мкг. Эти данные раскрывают до некоторой степени природу небелкового азота, углеводов и фосфора кислоторастворимой фракции полостной жидкости куколок шелкопряда. Пока трудно что-либо определенное сказать относительно физиологической роли этих соединений. Некоторое основание полагать, что соединения полипептидного характера могут играть определенную роль в белковом синтезе насекомого, дают результаты опытов, проведенных у нас в лаборатории с первым из полученных комплексов. Как видно из таблиц 7 и 8, после инкубации полостной жидкости дубового и тутового шелкопряда с глицином C^{14} радиоактивность обнаруживается почти исключительно в полипептиде и только через 16-48 часов начинает обнаруживаться в белковом осадке. Таким образом, глицин C^{14} прежде чем включиться в белки,

-II-

включается в полипептид. В связи с этим можно думать, что обнаруженный нами полипептид является одним из предшественников в синтезе белка.

Таблица 2

Включение глицина C^{14} в пептид и белки полостной жидкости зимующих куколок дубового шелкопряда в зависимости от времени инкубации (возраст куколок 3%)

Время инкубации в часах	Активность в имп/мин на мг белка	
	пептид	белок
Контроль (до инкубации)	19	3
8	42	4
24	65	5
32	64	27
48	170	450

Таблица 3

Включение глицина C^{14} в пептид и белки полостной жидкости куколки тутового шелкопряда в зависимости от времени инкубации (активность в имп/мин на мг белка)

Время инкубации в часах	20%-возраст куколок		80%-возраст куколок	
	пептид	белок	пептид	белок
Контроль	1	0	5	0
2	2	0	8	1
4	4	0	10	1
6	5	0	12	1
9	5	0	15	7
10	-	-	35	60
20	16	9	27	108

В свете полученных данных изучение роли пептидов, полипептидов и их комплексов в белковом синтезе приобретает особый интерес. Однако для окончательного суждения относительно роли обнаруженных нами полипептидов в синтезе белка в организме насекомого необходимо исключить возможность участия глицина в образовании нуклеотидного

-12-

компонента этого комплекса. Вместе с тем следует заметить, что так как в опытах одновременно с измерением радиоактивности пептидов учитывалась также радиоактивность белков, то вероятность участия полипептида в белковом синтезе не исключается.

Таким образом, в организме насекомого стимулирование синтеза белка может быть достигнуто добавлением как свободных аминокислот, так и пептидов. Однако остается еще невыясненным вопрос о путях синтеза белка. Возможно, что пептиды и полипептиды являются лишь промежуточными звеньями одного, единого процесса синтеза белка.

в) Энергетика синтеза белка

Синтез пептидной связи — процесс эндотермический. В живой клетке этот процесс осуществляется благодаря сопряженности его с другими энзиматическими реакциями, функция которых ведет к аккумулярованию богатых энергией преимущественно фосфатных и меркаптидных связей. В изолированных системах эта сопряженность нарушается, сохраняясь лишь в пределах выделенной из общей системы структуры. В живой клетке синтетические и энергетические процессы в значительной мере разобщены (3,8), поэтому можно предположить, что не всегда в однотипных изолированных структурах имеются необходимые энергетические условия для синтеза пептидной связи. При таком допущении всякое изменение количества АТФ в изолированных структурах должно оказывать на процесс синтеза белка определенный эффект. В действительности, опыты, проведенные у нас в лаборатории (10, 22), показали, что внесение АТФ в реакционную среду очень сильно активирует синтез белка в структурных образованиях полостной жидкости тутового шелкопряда. Из приведенных на рис. 1 данных следует, что добавление АТФ совместно со смесью аминокислот во много раз увеличивает синтез белка. Подобное усиление синтеза пептидной связи было обнаружено и в опытах с меченым глицином; АТФ увеличивает включение меченого глицина в 50 раз. О наличии тесной связи между синтезом белка и энергетическими условиями клетки свидетельствуют также результаты, полученные при изучении влияния специфических ингибиторов окислительного фосфорилирования на включение меченого глицина в белки полостной жидкости шелкопряда. В присутствии специфических ингибиторов, 2,4 динитрофенола и азида натрия, синтез белка подавляется на стадии гистолиза на 58-70%, а во время гистогенеза — полностью прекращается.

-13-

В энергетике синтеза пептидной связи животной и растительной клетки мы находим не только черты общности, но и определенного различия. Так, синтез пептидной связи значительно усиливается при добавлении АТФ в реакционную среду в опытах с изолированными хлоропластами, выделенными из листьев фасоли (см. таблицу 9).

Вместе с тем как и следовало ожидать, не при всяком состоянии организма действие АТФ на синтез белка удастся обнаружить. Так, когда возраст куколок тутового шелкопряда в процессе метаморфоза достигает 70% (см. рис. 1), АТФ оказывает отрицательное действие на белковый синтез. Связь между энергетикой синтеза белка и физиологическим состоянием организма очень четко проявляется в опытах с хлоропластами. Так было установлено, что АТФ оказывает положительный эффект на синтез белка в хлоропластах только при изолировании этих структур из листьев фасоли во время цветения этого растения (9). В хлоропластах, выделенных из молодых листьев фасоли добавление АТФ, как правило, стимулирующего действия на синтез белка не оказывает, а в ряде случаев ведет к угнетению этого процесса. (Табл. 9).

Таблица 9

Влияние АТФ на включение глицина C^{14} в белки структур, выделенных из листьев фасоли во время фазы цветения
(в имп/мин на 1 мг белка)

Фракция	Характер опыта	Время инкубации			
		30 мин.	1 час	2 часа	3 часа
Хлоропласты (осажденные при 3000 x g)	Без АТФ	19,7	61,0	97,8	123,3
	с АТФ	32,8	76,8	128,9	104,2
Митохондрии (осажденные при 15000 x g)	Без АТФ	24,8	57,7	—	114,8
	с АТФ 0,01M	34,5	76,7	—	125,0

Отрицательное влияние АТФ на синтез белка на определенных этапах развития организмов, по-видимому, связано со значительным усилением в эти периоды в жизни организмов активности АТФ-азы, приводящим к превращению АТФ в АДФ. Последняя как это показано экспе-

-14-

риментально (3), является ингибитором включения меченых аминокислот. Это предположение подкрепляется и тем фактом, что АТФ активирует синтез пептидной связи в хлоропластах фасоли лишь в фазе цветения, т.е. именно в тот период, когда активность АТФ-азы, согласно данным нашей лаборатории, резко снижается вплоть до полного исчезновения. Если это предположение правильно, то становится понятной наблюдающаяся в ряде случаев смена активирующего действия АТФ на угнетающее в процессе длительной инкубации хлоропластов (см. табл.9). К концу инкубации, очевидно, в результате деятельности АТФ-азы накапливается в значительных количествах АДФ, которая в свою очередь ингибирует синтез белка.

Снижение интенсивности включения меченой аминокислоты при добавлении АТФ уже наблюдалось в опытах с гомогенатом листьев этиолированных растений (8). Однако угнетающее действие снималось в этом случае после диализа гомогената, устраняющего, по мнению авторов, АТФ-азу. В наших опытах отрицательное влияние АТФ на включение меченого глицина в белки хлоропластов не прекращалось после многократной промывки этой фракции сахарозофосфатным раствором. Полученные данные отличаются от результатов аналогичных опытов с митохондриями этиолированных растений (8), где была обнаружена зависимость включения меченой аминокислоты от АТФ и процессов окислительного фосфорилирования.

Таким образом, в отношении связи с энергетическими процессами белковый синтез хлоропластов молодых растений имеет свои особенности, которые представляют известное отклонение от того же процесса в структурах как животной клетки, так и старых этиолированных растений.

Возможно, что особенности белкового синтеза хлоропластов обусловлены тем, что в хлоропластах молодых растений активно функционируют собственные процессы, обеспечивающие данную систему необходимой для синтеза пептидной связи энергией, вследствие чего экзогенная АТФ не оказывает положительного эффекта на этот процесс.

д) З а к л ю ч е н и е

Применение изотопного метода наряду с химическими методами открывает новые, широкие возможности при исследовании биосинтеза белка, позволяющего глубже познать химизм этого процесса, распределение его на протоплазматических структурах, особенности процесса

-15-

в различных тканях и органах организма и органоидах клетки, и характер его изменений в процессе развития организма.

Синтез пептидной связи в растительной и животной клетке осуществляется на разных типах структур с неодинаковой интенсивностью. В изолированных из растительной клетки системах обновление белка наиболее интенсивно происходит в сочетании структур типа митохондрий и микросом, а общее увеличение белка — в хлоропластах. В отличие от протоплазматических структур животной клетки в структурах растительной клетки мы не находим резко выраженной биохимической специализации клеточных органоидов и пространственного разобщения энергетических и синтетических процессов. Напротив, полученные данные склоняют к мысли, что энергетические и синтетические процессы в клетке зеленого растения приурочены к одному типу структур, указывая на менее выраженную биохимическую дифференциацию клеточных органоидов зеленого растения.

Особенности белкового синтеза структур растительного происхождения проявляются не только во внутриклеточном распределении этой функции, но и в самой природе процесса. Об этом свидетельствует различное отношение энзиматического включения аминокислот в белки структур к ингибирующему фактору, а также некоторые различия в условиях этого синтеза.

В хлоропластах растительной клетки синтез пептидной связи осуществляется при участии, по крайней мере, двух различных энзиматических систем, катализирующих синтез белка из свободных аминокислот и пептидов. В полостной жидкости шелкопряда синтез белка также идет при участии аминокислот и пептидов. Кроме того, в полостной жидкости насекомого, по-видимому, в белковом синтезе участвуют соединения полипептидной природы. Вероятно, что они являются одним из возможных предшественников белковой молекулы.

Обнаруженные особенности белкового синтеза во внутриклеточных структурах растительного и животного организма подчеркивают необходимость проведения исследований и химизма синтеза пептидной связи в сравнительно биохимическом аспекте.

Л и т е р а т у р а

1. Опарин А.И., Гельман Н.С., Жукова И.Г., ДАН СССР, 1955, 105, 1036
2. Gale E.F. Conférencés et rapports. 3-ème Congress Journ. de biochimie. p. 345, 1956

-16-

3. Siekevitz Ph., J. Biol. Chem. 195, 549 (1952)
4. Zamechnik O.C. a Keller E.B., J. Biol. Chem. 209, 337 (1954)
5. Allfrey V.C., Mirsky A.E., Syozo Osawa Nature, 176, 1042 (1955)
6. Збарский И.Б., Перевощикова К.А., ДАН СССР, 1956, 107, 285
7. Хесин Р.В. Роль структурных компонентов цитоплазмы клеток печени и поджелудочной железы в процессах синтеза белка. Дисс. 1953
8. Webster C.C., Plant. Physiol. 29, 202 (1954), 30, 351, 1955
9. Сисакян Н.М. и Филиппович Н.И., Биохимия, 1957, 22, 357
10. Сисакян Н.М. и Куваева Е.Б., Биохимия, 1957, 22, 686
11. Плешков Б.П. и Иванко М., Биохимия, 1956, 21, 496
12. Barsook H. Conferences et rapports 3-eme Congres. Inter. de biochimie, 1956
13. Hoagland M.B., Biochem. et Biophys. acta, 16, 288 (1954)
14. Loftfiell P.B., Harris A., J. Biol. Chem. 219, 151 (1956)
15. Steiberg D., Aufinsen C.B., J. Biol. Chem. 199, 25 (1952)
16. Baak I.D., Biochem. J. 66, 101 (1957)
17. Сисакян Н.М. и Филиппович Н.И., ДАН СССР, 1955, 103, 579
18. Wyatt G.R., Longhead T.C., Wyatt S.S., Journ. Gen. Physiol. 39, 853 (1956)
19. Drilhon A., C.R. Acad. Sci. 238, 25 (1954)
20. Сисакян Н.М. и Гумилевская Н.А., Биохимия, 1956, 21, 810
21. Сисакян Н.М. и Вейнова М.К., Биохимия, 1958, 23, 52
22. Сисакян Н.М., Куваева. ДАН СССР, 1955, 113, 873

-17-

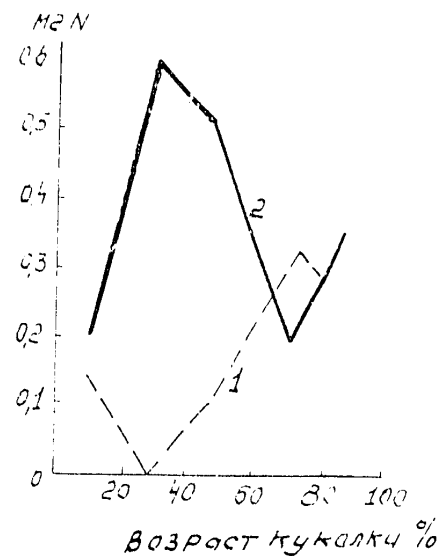


Рис. I. Синтез белка в полостной жидкости тутового шелкопряда при добавлении смеси аминокислот (1) и смеси аминокислот с АТФ (2). Определения проведены по нарастанию белкового азота

2565